



(19) **RU** ⁽¹¹⁾ **2 195 889** ⁽¹³⁾ **C2**

(51) Int. Cl.⁷ **A 61 B 17/322, C 12 N 5/00, A
61 L 27/60**

RUSSIAN AGENCY
FOR PATENTS AND TRADEMARKS

(12) **ABSTRACT OF INVENTION**

(21), (22) Application: 99111224/14, 24.05.1999
(24) Effective date for property rights: 24.05.1999
(43) Application published: 20.02.2001
(46) Date of publication: 10.01.2003
(98) Mail address:
194021, Sankt-Peterburg, Politehnicheskaja,
26, FTI im. A.F. Ioffe RAN,
patentno-litsenzionnaja sluzhba, V.I. Belovu

(71) Applicant:
Paramonov Boris Alekseevich
(72) Inventor: Paramonov B.A.,
Ozerskaja O.S., Judintseva N.M., Karpukhina
L.G., Kudojarov M.F.
(73) Proprietor:
Paramonov Boris Alekseevich

(54) **METHOD FOR DERMABRASION**

(57) Abstract:
FIELD: medicine, dermatological
cosmetology. SUBSTANCE: the method deals
with leveling the relief at removing skin
problems. Surface skin layers are removed in
the sites of pathological defects. Sections
with removed skin layers are applied with a
film made of a biocompatible polymer with a
grown layer of animal cells. Moreover, a

film is used with through pores of $D = (0.01 - 3.0)$ μm diameter and density of pores being $N = (10^3 - 10^9)$ $1/\text{cm}^2$. A film is applied to use the surface of the above-mentioned cells. As animal cells one should use autologous keratinocytes, allogenic keratinocytes, allogenic fibroblasts. EFFECT: decreased terms of epithelization. 3 cl., 3 ex

RU 2 195 889 C2

RU 2 195 889 C2



(19) RU (11) 2 195 889 (13) C2

(51) МПК⁷ A 61 B 17/322, C 12 N 5/00, A
61 L 27/60

РОССИЙСКОЕ АГЕНТСТВО
ПО ПАТЕНТАМ И ТОВАРНЫМ ЗНАКАМ

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

(21), (22) Заявка: 99111224/14, 24.05.1999

(24) Дата начала действия патента: 24.05.1999

(43) Дата публикации заявки: 20.02.2001

(46) Дата публикации: 10.01.2003

(56) Ссылки: ЭЗРОХИН В.М.
Клинико-морфологическая характеристика
татуировок, их удаление дерматомом с
последующим лечением раневых поверхностей
кожи. Методы хирургического лечения
врожденных и приобретенных косметических
недостатков. Сб. научн. трудов. - М., 1979,
с.36-42. SU 1627152 A1, 15.02.1991. RU
2033213 C1, 20.04.1995. RU 2014359 C1,
15.06.1994. RU 2104039 C1, 10.02.1998.
МАЛАХОВ С.Ф. и др. Аутотрансплантация
выращенных вне организма кератиноцитов с
целью лечения обширных ожогов. Вестник
хирургии им. И.И.Грекова, 1993, №3 и 4, с.59-61.

(98) Адрес для переписки:
194021, Санкт-Петербург, Политехническая,
26, ФТИ им. А.Ф.Иоффе РАН,
патентно-лицензионная служба, В.И.Белову

(71) Заявитель:
Парамонов Борис Алексеевич

(72) Изобретатель: Парамонов Б.А.,
Озерская О.С., Юдинцева Н.М., Карпухина
Л.Г., Кудояров М.Ф.

(73) Патентообладатель:
Парамонов Борис Алексеевич

(54) СПОСОБ ДЕРМАБРАЗИИ

(57)
Изобретение относится к медицине, в
частности к дерматологической косметологии,
и может быть использовано для
выравнивания рельефа при устранении
проблем кожи. Удаляют поверхностные слои
кожи в местах расположения патологических
дефектов. На участки с удаленными слоями
кожи накладывают на 5-15 сут пленку из
биосовместимого полимера с выращенным

слоем животных клеток. При этом используют
пленку со сквозными порами диаметром
 $D=(0,01-3,0)$ мкм и плотностью пор
 $N=(10^3-10^9)$ 1/см². Пленку прикладывают
поверхностью со слоем упомянутых клеток. В
качестве животных клеток используют
аутологичные кератиноциты, аллогенные
кератиноциты, аллогенные фибробласты.
Способ позволяет сократить сроки
эпителизации. 3 з.п.ф-лы.

RU
2
1
9
5
8
8
9
C
2

RU
2
1
9
5
8
8
9
C
2

более конкретно - с - последующим - лечением раневых поверхностей кожи. - Сб. научн. трудов "Методы хирургического лечения врожденных и приобретенных косметических недостатков". - М.: 1979).

В настоящее время все методы дермабразии сводятся к удалению (отслаиванию, коагуляцией или соскабливанием), в зависимости от показаний, на определенную глубину кожи в местах патологических очагов с последующим закрытием обработанных участков различными покрытиями (в случае удаления среднего и глубокого слоев кожи) или различными антисептическими мазями (в случае шлифовки до сосочкового слоя кожи).

Так, известен способ дермабразии, включающий удаление поверхностных слоев кожи в местах расположения патологических очагов с помощью фрез из металла, корунда и нейлона, вращающихся со скоростью до 70 тысяч оборотов в минуту, очищение отшлифованной поверхности от элементов деградировавшей кожи и заживление шлифованной поверхности наложением мазей (солкосерилового желе или гелей (см. Лапутин Е. Современное представление о дермабразии. - Les Nouvel Esthetiques, - 1999, 1, p. 18-24).

Недостатком известного способа дермабразии являются: истончение кожи, обесцвечивание, появление разграничительной линии между шлифованной и не шлифованной поверхностями.

Известен способ дермабразии, включающий удаление поверхностных слоев кожи в местах расположения патологических дефектов воздействием лазерного излучения и последующее нанесение на участки кожных дефектов антисептической мази (см. Cochar J.- Laser, pathologic dermatology and esthetic dermatology. - First International Congress on Laser-therapy.- University of Modena.- 1983.

Этот известный способ дермабразии является более щадящий, чем предыдущий, однако при его использовании достигаются относительно плохие косметические результаты.

Известен способ дермабразии, включающий контактное воздействие ультразвуком низкой частоты от 20 до 60 кГц и амплитудой колебаний от 2 до 70 мкм и последующее наложение антисептической повязки (см. патент РФ 2119775 по кл. А 61 В 17/36, опубликован 10.10.1998).

Недостатком известного способа дермабразии являются недостаточно хорошие косметические результаты.

Наиболее близким по технической сущности и количеству существенных признаков к заявляемому способу является принятый за прототип способ дермабразии, включающий удаление дерматомом дефектов кожи, например татуировки, и последующее наложение на обработанный дерматомом участок животных клеток в виде лоскута аутокожи для закрытия дефекта от вторичной инфекции и предотвращения плазморагии (см. Эзрохин В.М. - Клинико-морфологическая

дерматомом - с - последующим - лечением раневых поверхностей кожи. - Сб. научн. трудов "Методы хирургического лечения врожденных и приобретенных косметических недостатков". - М.: 1979).

При использовании способа-прототипа для глубоко залегающих дефектов (ниже сосочкового слоя дермы), таких как невусы, татуировки, пигментные и сосудистые пятна, происходит более или менее выраженное рубцевание кожи вплоть до образования гипертрофических и келоидных рубцов, значителен риск инфицирования, что в итоге увеличивает сроки лечения.

Задачей настоящего изобретения являлась разработка такого способа дермабразии, который бы обеспечивал сокращение эпителизации и безрубцовое заживление глубоких кожных дефектов, снижал риск инфицирования, улучшал качества кожи и в конечном итоге позволял сократить сроки лечения.

Поставленная задача решается тем, что в способе дермабразии, включающем удаление поверхностных слоев кожи в местах расположения патологических дефектов и последующее нанесение на участки с удаленными слоями кожи животных клеток, нанесение животных клеток осуществляют наложением на 5-15 суток (в зависимости от толщины удаленных слоев кожи) на упомянутые участки пленки из биосовместимого полимера со сквозными порами диаметром $D=(0,01-3,0)$ мкм и плотностью пор $N=(10^3-10^9)$ $1/\text{см}^2$ с выращенным на прикладываемой к коже поверхности слоем животных клеток. На поверхности пленки может быть выращен слой аллогенных кератиноцитов или фибробластов или слой аутогенных кератиноцитов.

Как показали проведенные авторами исследования, нанесение на участки кожи с удаленными поверхностными слоями фибробластов или кератиноцитов, выращенного на полимерной биосовместимой пленке со сквозными порами диаметром $D=(0,01-3,0)$ мкм и плотностью пор $N=(10^3-10^9)$ $1/\text{см}^2$, обеспечивает сокращение сроков эпителизации и способствует лучшему заживлению с образованием меньшего дефекта кожи, при этом одновременно исключается проникновение микроорганизмов к обработанным участкам. В то же время пленка не препятствует проникновению газов (кислорода и углекислого газа) для обеспечения репаративных процессов кожного покрова. Хорошие результаты были получены при использовании пленок из полиэтилентерефталата, карбоксиметилцеллюлозы и полиимидов. Если пленка имеет толщину менее 3 мкм, диаметр отверстий более 3,0 мкм и плотность отверстий более 10^9 $1/\text{см}^2$, то ее механическая прочность оказывается недостаточной. При толщине пленки более 100 мкм, диаметре отверстий менее 0,01 мкм и плотности отверстий менее 10^3 $1/\text{см}^2$ ухудшаются условия газообмена. В связи с наличием на поверхности пленки электростатического заряда пленка надежно удерживается на поверхности кожи. Если пленку удалять ранее 5 суток, то возможно

через 15 суток во всех случаях пленка легко снимается.

Авторам из научно-технической, в том числе патентной, литературы неизвестна совокупность признаков заявляемого технического решения, что, по мнению авторов, свидетельствует о соответствии заявляемого способа критерию "новизна".

Отличительные признаки заявляемого технического решения обеспечивают достижение нового технического результата - заживление обработанных участков кожи с меньшим кожным дефектом при глубоких поражениях и без рубцов при более поверхностных поражениях, особенно в случае шлифования поверхностных рубцов, снижение риска инфицирования, что соответствует критерию "изобретательский уровень".

Заявляемый способ дермабразии осуществляют следующим образом. Операционное поле обрабатывают антисептиком, проводят местную или внутривенную анестезию (при обширных дефектах кожи) и удаляют известными методами (отслаиванием, коагуляцией или соскабливанием) послойно поверхностные слои кожи на участках патологических дефектов. Обрабатывают отшлифованную поверхность кожи физиологическим раствором и накладывают на 5-15 суток пленку из биосовместимого полимера со сквозными порами диаметром $D=(0,01-3,0)$ мкм и плотностью пор $N=(10^3-10^9)$ $1/\text{см}^2$ с выращенным на прикладываемой к коже поверхности слоем животных клеток (аллогенных или аутологичных кератиноцитов или аллогенных фибробластов). Аутологичные кератиноциты выделяют из кусочков интактной кожи за 10-14 суток до начала операции. Аллогенные кератиноциты и фибробласты получают из кожи здоровых доноров (во время косметических операций) или плодов после осуществления по медицинским показаниям операции аборт. Культивирование клеток проводят только при условии отрицательных анализов на вирус СПИДа, герпеса, гепатита, сифилиса и другие трансмиссивные заболевания. Кусочки кожи для выращивания клеток срезают в стерильных условиях различными способами (скальпелем, дерматомом, ножом Тирша или другим способом) под общей или местной анестезией. Жизнеспособность выделяемых из кусочков кожи кератиноцитов в определенной мере зависит от толщины срезаемых лоскутков кожи. Это связано с необходимостью проведения их ферментной обработки. При отборе кожных лоскутков для выращивания клеток кератиноцитов следует стремиться срезать кожные лоскуты толщиной не более 0,2-0,3 мм. После среза кожные лоскуты помещают в ростовую среду (Игла, 199 или другую) и в охлажденном состоянии (при температуре не выше $+4^\circ\text{C}$) доставляют в лабораторию. На следующем этапе осуществляют выделение клеток по одному из известных вариантов для последующего их культивирования. Приведем один из известных вариантов выделения клеток. Кожу промывают в солевом растворе Хенкса, содержащем 200 $\text{U}/\text{мл}$ гентамицина, разрезают на мелкие кусочки площадью 0,2-0,5 см^2 . Кусочки кожи инкубируют в

5
10
15
20
25
30
35
40
45
50
55
60

0,5%-ого раствора диспазы —с— 0,2%-ым раствором коллагеназы) в сбалансированном солевом фосфатно-буферном растворе при температуре от 0°C до $+4^\circ\text{C}$ в течение 12-18 часов. Затем кусочки кожи переносят в фосфатный солевой буферный раствор Дульбекко и с помощью пинцета отделяют эпидермис от дермы. Эпидермис инкубируют в 0,125%-ом растворе трипсина в течение 10-15 минут при перемешивании со скоростью 50 об/мин, после чего действие фермента останавливают добавлением 5%-ой эмбриональной сыворотки крупного рогатого скота. Полученную суспензию клеток фильтруют через нейлоновую марлю и центрифугируют при 1000 об/мин в течение 5 минут. Затем полученную взвесь клеток высевают на чашки Петри, на дно которых помещают предварительно простерилизованные (обработкой в автоклаве, кипячением или другим известным способом) полимерные пористые подложки со сквозными порами диаметром $D=(0,01-3,0)$ мкм и плотностью пор $N=(10^3-10^9)$ $1/\text{см}^2$. Культивирование кератиноцитов или фибробластов проводят на указанной выше пленке, которую получают по известной технологии изготовления ядерных мембран - облучением пленки высокоэнергетическими тяжелыми ионами (азота, кислорода, неона, аргона, криптона, ксенона), последующим облучением ультрафиолетовым излучением и химическим травлением в водном растворе гидроксида натрия. Так, при облучении полиэтилентерефталатной пленки толщиной 10 мкм ионами семизарядного аргона, ускоренными до энергий 41 МэВ, последующим облучением в течение 40 минут ультрафиолетовым излучением и химическим травлением в 3,5N водном растворе NaOH при температуре 75°C в течение 4 минут получают прозрачную подложку со сквозными цилиндрическими порами диаметром $D=0,5$ мкм и плотностью пор $N=107$ $1/\text{см}^2$. Культивирование, в зависимости от используемой ростовой среды и добавок, можно проводить по ряду известных вариантов. Например, один из них осуществляют следующим образом. Для выращивания клеток используют ростовую среду FAD, состоящую из смеси сред DMEM и F12 в соотношении 3:1, с добавлением 10%-ой эмбриональной сыворотки крупного рогатого скота, 50 мкг/мл инсулина (Sigma), 0,4-0,5 мкг/мл гидрокортизона гемисукцинага (Sigma), аденина - $1,8 \cdot 10^4$ М, трансферрина - 51 мкг/мл, лиотиронина - $2 \cdot 10^{10}$ М, холерного токсина - 10^{10} М, эпидермального фактора роста (ЭФР) - 10 нг/мл. При этом культивирование кератиноцитов могут осуществлять как в присутствии фидерного слоя фибробластов 3Т3, так и без него. Чашки Петри размещают в термостате-инкубаторе при 37°C в атмосфере углекислоты (до 5%). Смену среды производят через каждые 48 часов. Интенсивность пролиферации клеточной культуры контролируют с помощью инвертированного микроскопа. Пленку с выращенным на ней слоем клеток накладывают на кожу стороной, на которой находится слой клеток. Через 5-15 суток пленку удаляют.

Благодаря выращиванию клеток на

их на обработанные участки кожи. Следует также отметить, что при использовании заявляемого способа в случае шлифования кожи и рубцов не происходит истончения кожи, а вид рубцов значительно улучшается не только за счет улучшения его рельефа, но и благодаря формированию над ним слоя "новой кожи".

Примеры конкретного выполнения заявляемого способа дермабразии.

1. Пациентка Л., 18 лет, перенесла в детстве ожог кипятком. В области правого плеча остался атрофический рубец размером до 20 см². За 14 дней до операции взята биопсия. Операция осуществлена под местной анестезией 2%-ым раствором лидокаина. С помощью пескоструйной обработки были удалены рубцовые слои кожи. На обработанный участок была наложена пленка из полиэтилентерефталата со сквозными порами диаметром $D=(0,01-3,0)$ мкм и плотностью пор $N=(10^3-10^9)/\text{см}^2$ с выращенным на ее поверхности слоем аутологичных кератиноцитов. Заживление происходило без осложнений, общее состояние не нарушалось, отмечалась незначительная краснота вокруг зоны шлифовки, незначительная отечность и боль. К 5 суткам все эти явления стихли, пленка была удалена через 8 суток. Поверхность рубца выглядела более ровной, местами рубцовая ткань практически стала незаметной. Покраснение отшлифованной поверхности держалось два месяца, в местах более глубокой шлифовки - до трех месяцев. Результатом операции пациентка осталась довольна.

2. Пациент У. обратился по поводу глубоких атрофических рубцов на щеках, возникших после тяжелой формы шаровидных угрей. За 14 дней до операции взята биопсия с внутренней поверхности плеча, из клеток которой на пленке был выращен слой аллогенных клеток. Под местной анестезией 2%-ным раствором лидокаина была произведена комбинированная шлифовка кожи обеих щек с помощью металлической фрезы и электрокоагуляцией по краям рубцовых поражений. Поверхность кожи после шлифовки была обработана физиологическим раствором и высушена стерильными салфетками. На обработанные участки кожи была наложена пленка со слоем аллогенных клеток. Через 15 суток пленка была удалена,

ровнее по рельефу, местами рубцы сгладились, стали менее заметными. Пациенту было рекомендовано делать примочки из борной кислоты, аппликации пантенола и смазывание солкосерилевой мазью. Через месяц кожа значительно побледнела, рубцы стали еще менее заметны. Через два месяца осталась незначительно выраженная розовая окраска кожи в местах шлифования, местами яркость несколько выше. Рельеф кожи стал еще более выровненным. Пациент оценил свое состояние как очень хорошее.

3. Пациент И., 55 лет. Показания к операции: возрастные изменения кожи лица (морщины), особенно в области верхней губы, лба, вокруг глаз. Шлифовка кожи была произведена излучением полупроводникового лазера мощностью 6 Вт под местной анестезией 2%-ым раствором лидокаина. После шлифовки была наложена пленка со слоем фибробластов. Пленка была снята через 5 суток. Результатами дермабразии пациент удовлетворен. Глубокие морщины сгладились, мелкие исчезли. Кожа по толщине не уменьшилась, разницы в уровне шлифованной и не шлифованной поверхности не было.

Формула изобретения:

1. Способ дермабразии, включающий удаление поверхностных слоев кожи в местах расположения патологических дефектов и последующее нанесение на участки с удаленными слоями кожи животных клеток, отличающийся тем, что наносят животные клетки наложение на 5-15 сут на упомянутые участки пленки из биосовместимого полимера со сквозными порами диаметром $D=(0,01-3,0)$ мкм и плотностью пор $N=(10^3-10^9)/\text{см}^2$ с выращенным на прикладываемой к коже поверхности слоем упомянутых животных клеток.

2. Способ по п. 1, отличающийся тем, что на прикладываемой к коже поверхности пленки выращен слой аутологичных кератиноцитов.

3. Способ по п. 1, отличающийся тем, что на прикладываемой к коже поверхности пленки выращен слой аллогенных кератиноцитов.

4. Способ по п. 1, отличающийся тем, что на прикладываемой к коже поверхности пленки выращен слой аллогенных фибробластов.